Lane Medical Library

Die Milchsäurebildung bei der antiseptischen Autolyse der Leber.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT
ZU BERLIN

Von

Georg von Stein
aus Moskau.

Tag der Promotion: 27. Juli 1911.

Berlin 1911
Universitäts-Buchdruckerei von Gustav Schade (Otto Francke)
Linienstraße 158

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin.

Referent: Prof. Dr. **Orth.**

Meinen Eltern

gewidmet.

Theoretischer Teil.

Die Leberzellen besitzen, wie bekannt, im lebensfrischem Zustande eine schwach alkalische Reaktion. Nach dem Tode jedoch wird dieselbe sauer, was Pribram[1]) auf Kohlensäure, Wissokowitsch[2]) und Morishima[3]) auf Gährungsmilchsäure, Ekunina[4]) auf Essigsäure und Magnus-Levy[5]) auf Kapronsäure, Ameisensäure, Bernsteinsäure und Milchsäure zurückführen. Ekunina[4]) konstatierte bei der Digestion der Leber mit destilliertem Wasser das Vorhandensein von Milchsäure und Bernsteinsäure, welche jedoch auf Fäulnis zurückgeführt wurden. E. Salkowski[6]) fand bei der von ihm zuerst ausgeführten „Autodigestion" der Leber und der Muskel weder Milchsäure noch Bernsteinsäure noch höhere flüchtige Fettsäuren und vermochte keinen Unterschied zwischen deren Vorhandensein im „Hauptversuch" und im „Kontrollversuch", namentlich bei der „Autodigestion" der Muskeln, festzustellen. Der Begriff „Autodigestion" wurde von Jacoby[7]) als „Autolyse" bezeichnet. E. Salkowski[6]) verwendete in seinen Versuchen frische feingehackte Hundeleber. Im „Hauptversuch" wurde dieselbe mit dem 10fachen Volumen gesättigten Chloroformwassers in einer dicht schließenden

Flasche digeriert. Im „Kontrollversuch“ wurde die Leber mit demselben Quantum des Antiseptikums der Autolyse unterworfen, nachdem sie aber vor der Digestion mit der Flüssigkeit aufgekocht war und somit das ungeformte Ferment der durch das Chloroform abgetöteten Leberzellen vernichtet worden war.

In lebensfrischer Leber ist nach Morishima[13]), Magnus-Levy[5]) und Salkowski[6]) keine Milchsäure vorhanden.

Da nun bei dem Ausfall der Leberfunktion, wie es zuerst Minkowski[8]) an entleberten Gänsen, Nebelthau[9]) an entleberten Fröschen, Zillessen[10]) nach Unterbindung der Arteria hepatica bei Hunden, Salaskin und Zaleski[11]) bei Hunden, welche die Leberexstirpation überlebten, im Harn reichlich Milchsäure auftritt, so liegt es nahe, dieselbe in eine engere Beziehung zur Leberfunktion zu setzen. Die Ausscheidung von Milchsäure durch den Harn wurde auch mehrmals bei der akuten gelben Leberatrophie von Schultzen und Rieß[12]), Röhmann[15]), Araki[16]) nachgewiesen. Außerdem steht fest, daß nach verschiedenen Noxen, welche auf die Leberfunktion einwirken, z. B. Sauerstoffmangel, Phosphor- und Arsenvergiftung [Araki[16])], Kohlenoxydvergiftung [Münzer und Palma[17])], Milchsäure im Harn auftritt.

Was die Herkunft der Milchsäure anbetrifft, so äußert sich Hoppe-Seyler[18]), auf die Versuche von Zillessen[10]) und Araki[16]) gestützt, folgendermaßen: „Es ist endlich höchst wahrscheinlich, daß diese Ver-

hältnisse für alle Organismen in gleicher Weise Geltung haben, und Milchsäurebildung bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff, die Bildung von CO_2 und H_2O an ihrer Stelle bei Anwesenheit des Sauerstoffgases eine allen lebenden Protoplasmen bei Gegenwart von Glykogen oder Glykose allgemein zugehörige Eigenschaft darstellt." Magnus-Levy[5]), Seegen[29]), Pick[30]) und Wohlgemuth[31]) sprechen sich für eine fermentative Bildung der Milchsäure, Foster[32]), Dastre[33]), Paton[34]), Cavazzani[35]) und Salkowski[6]) in seinem ersten Versuch dagegen für eine protoplasmatische aus.

Die Ansicht, daß die Milchsäure aus Kohlehydraten stammt, wird von Magnus-Levy[5]), diejenige, daß die Milchsäure von Eiweißkörpern abstammt, von Asher[19]) vertreten. Inouye und Kondo[20]) beobachteten eine starke Zunahme der Milchsäure bei der Autolyse der Kaninchenmuskeln, und Stoklasa und Czerny[21]) geben an, aus Muskeln, Leber und Lunge ein Ferment isoliert zu haben, welches Milchsäure aus Traubenzucker auch in Gegenwart von 0,4 Proz. Thymol oder 1 Proz. Toluol zu bilden vermochte, was jedoch mit den Ergebnissen von Salkowski[6]), Schwiening[23]) und Heffter[22]) in Widerspruch steht. Inouye und Kondo[20]) führen die Bildung der Milchsäure bei der antiseptischen Autolyse auf ein Ferment zurück; sie erklären seine Wirkung bei Sauerstoffmangel dadurch, daß die Organzellen „ihre Regulationsfähigkeit gegen die Fermentwirkung einbüßen, oder daß diese abgeschwächt wird, und infolgedessen die Fermente ihre Wirkung im vollen Umfang entfalten". Berlinerblau[24]) stellte eine Vermehrung der „Fleisch-

milchsäure“ im Blute der hinteren Extremitäten von Hunden und Kaninchen fest, welche mit Glykogen und Glykose versetzt worden sind. Vaughan Harley[25]) injizierte Hunden Zuckerlösungen in die Jugularis und konstatierte eine Zersetzung desselben unter Bildung von Milchsäure. Araki[26]) weist darauf hin, daß die Bildung von Fleischmilchsäure bei Sauerstoffmangel stets mit Verlust von Glykogen einhergeht. Embden[52]) stellte an Durchblutungsversuchen der Leber fest, daß die Milchsäure (ihre Natur ist nicht angegeben) als ein intermediäres Produkt bei dem Kohlehydratstoffwechsel der glykogenhaltigen und glykogenfreien Leber auftritt.

Magnus-Levy[5]) nimmt die Abstammung der Milchsäure nicht nur aus Glykogen oder Traubenzucker, sondern auch aus Maltose und anderen unbekannten Kohlehydraten an. Seegen[27]) spricht sich auch für die Bildung von Milchsäure aus Maltose aus. Schließlich könnte der Organismus Kohlehydrate aus Eiweiß oder anderen unbekannten Atomkomplexen bilden [Magnus-Levy[5])]. Auch aus Cystin und Alanin könnte nach demselben Autor Milchsäure gebildet werden, doch sei dies höchst unwahrscheinlich, da ihre Menge zu gering ist. Eine Synthese der Milchsäure wäre nicht ausgeschlossen. In der Leber tritt sie nur als Zwischenstufe des Stoffwechsels auf, die dann weiter oxydiert wird. Bei Schädigung ihrer Funktion vermag die Leber die Milchsäure nicht zu oxydieren, sie erscheint dann im Harn.

Was die Natur der gebildeten Säure anlangt, so weist Magnus-Levy[5]) darauf hin, daß bei der Autolyse

der Leber ein deutlicher Unterschied in der Bildung der flüchtigen und nichtflüchtigen Säuren besteht, und zwar treten beim Rind mehr nichtflüchtige, beim Fleischfresser mehr flüchtige Säuren im Verhältnis zueinander auf. Dieser Unterschied ist nur bei der aseptischen Autolyse vorhanden. Bei der antiseptischen Autoyse fällt er fort. Außerdem erfordert die Säurebildung Monate bei der antiseptischen Autolyse da, wo sie nur Stunden bei der aseptischen Autolyse braucht [Magnus-Levy[5])]. Die hemmende Wirkung der Antiseptica ist auch von Conradi[55]) beobachtet worden. Nach der Ansicht von Magnus-Levy[5]) könnten sich auch die flüchtigen Säuren aus der Milchsäure bilden. Die Milchsäure ist nach den Untersuchungen desselben Autors in frischer Leber stets Paramilchsäure; nach dem Tode und bei der Autolyse Gärungsmilchsäure. Die Milchsäure ist zu 90 Proz. aus inaktiver Milchsäure zusammengesetzt.

Morishima[28]) fand die Milchsäure manchmal bis zu 66 Proz. aus Gärungsmilchsäure bestehend, während der Rest Paramilchsäure ist. Er leitet die erstere von Kohlenhydraten, letztere von Eiweiß ab. Die Natur der Milchsäure ist noch von verschiedenen Autoren bei der antiseptischen Autolyse festgestellt worden. So fanden Mochizuki und Arima[36]) eine Zunahme der Milchsäure bei der Autolyse der Stierhoden. Dieselbe erwies sich als Rechtsmilchsäure. Auch stellten sie eine Zunahme derselben fest, welche etwa am 4. Tage ihr Maximum erreicht. Die Natur der Säure wurde, wie dies auch von Magnus-Levy getan worden ist, durch das Zinksalz und die Polarisation bestimmt. Kikkoji[37]) unter-

suchte die Milchsäure bei der Autolyse der Milz und stellte dieselbe als Rechtsmilchsäure fest, außerdem aber auch ihre Zerstörung bei langdauernder Autolyse. Inouye und Kondo[20]) beobachteten eine gewaltige Zunahme der Milchsäure bei der Autolyse von Kaninchen- und Hühnermuskeln, auch einen Anstieg der Menge derselben bis zum 4. Tag, dann eine Verminderung derselben. Die Milchsäure erwies sich auch hier als Rechtsmilchsäure.

Saito und Yoshikawa[38]) stellten die Anwesenheit von Rechtsmilchsäure bei der Autolyse der Thymus und der Lungen (maximale Menge derselben nach 2—4 Tagen, dann Verminderung der Menge) fest. Gegen diese Versuche ist einzuwenden, daß dieselben nicht mit der 10fachen Menge des Antiseptikums digeriert worden sind, sondern nur mit der doppelten Menge Toluolwasser, wodurch Fäulnis nicht ausgeschlossen ist. Moscatelli[39]) und Moryo[40]) fanden in der Thymus Paramilchsäure.

Der Einfluß der Reaktion auf den Gang der Autolyse ist zuerst von Biondi[41]) untersucht worden. Biondi konstatierte eine Beförderung der Autolyse beim Ansäuern der Autolysenflüssigkeit mit Salzsäure, Schwiening[42]) fand eine Hemmung derselben bei Zusatz von Soda.

Hedin und Rowland[43]) fanden, daß Sodalösungen von Blutalkaleszenz die Autolyse erheblich herabsetzten, eine 0,1 proz. Salzsäure und 0,25 proz. Milchsäure dagegen dieselbe verstärkten. Ebenso verstärkend wirkte eine 0,25 proz. Essigsäure. Levene und Stookey[44]) fanden eine Beschleunigung der Hirnautolyse durch 0,2 proz. Essigsäure und Herabsetzung derselben durch 0,5 proz.

Sodalösung. Wiener[45]), Hildebrand[46]), Baer und Loeb[47]) bestätigten den günstigen Einfluß der Säuren und ungünstigen Einfluß der Alkalien auf die Autolyse.

Hedin[48]) fand, daß das proteolytische Ferment nach vorheriger Behandlung mit Alkalien auch bei sauerer Reaktion langsamer wirkt, nach vorheriger Behandlung mit Säuren und alkalischer Reaktion dagegen eine beschleunigte Wirkung entfaltet. Drjewezki[49]) konstatierte, daß die Autolyse bei 0,5 Proz. Soda nicht zustande kommt, bei 0,2 Proz. herabgesetzt wird. Arinkin[50]) untersuchte den Einfluß der Salzsäure, Schwefelsäure, Bernsteinsäure und Milchsäure auf die Autolyse der Leber und vermochte ein gewisses „Optimum" der Konzentration für jede Säure festzustellen. Auch ist von ihm festgestellt worden, daß diese beschleunigende Wirkung nur der ersten Zeit der Autolyse zukommt. Die Angabe von Inouye und Kondo[21]), daß eine Abnahme der Milchsäure bei längerer Digestion eintritt, ist von Frew[51]) Mochizuki und Arima[36]), Saito und Yoshikawa[38]) und Magnus-Levy[5]) bestätigt worden. Als Ursache der individuellen Verschiedenheit bei der Autolyse sieht Magnus-Levy[5]) bei verschiedenen Tieren derselben Art die „verschiedene Menge und ungleiche Wirksamkeit der Fermente, Beeinflussung durch andere Umsetzungen, den Ernährungszustand, die Art der vorangegangenen Fütterung, den Zeitpunkt der letzten Futteraufnahme vor der Tötung" an. In meinen Autolysen spielt wohl auch die verschiedene Lagerungsdauer der Leber bei dem Schlächter bei verschieden hoher Temperatur eine gewisse Rolle. Die Aufgabe dieser Arbeit war, den Einfluß der

Antiseptika und der verschiedenen Zeitdauer auf die Bildung von Milchsäure bei der antiseptischen Autolyse zu studieren, wie es von Yoshimoto[53]) bereits für die Menge des in Lösung gegangenen N gemacht worden ist. Ferner sollte der Einfluß mancher Stoffe, aus welchen vermutlich sich Milchsäure bilden könnte, beim Zusetzen zu dem Autolysegemisch studiert werden.

Experimenteller Teil.

Der experimentelle Teil gestaltete sich folgendermaßen: Möglichst frisch eingekaufte Kalbsleber wurde von gröberen Fett- und Bindegewebeteilen mit dem Messer befreit, in kleine Stücke geschnitten und mit dem Wiegemesser möglichst fein zerkleinert. Von diesem feinen Leberbrei wurden jedesmal 2—4 Portionen zu 100 g abgewogen, in weithalsige Flaschen mit eingeschliffenem Stopfen gebracht und zunächst mit einem halben Liter der antiseptischen Lösung zusammengebracht; dieses geschah, um den Brei beim nachfolgenden Schütteln gleichmäßiger verteilen zu können. Nach kräftigem, etwa eine Minute lang dauernden Schütteln mit der Hand wurden die Flaschen bis auf ein Liter des Antiseptikums aufgefüllt und im Thermostaten bei 40° C unter häufigerem Schütteln auf verschieden lange Zeiten belassen.

Bei Zusatz von Stärke, Dextrin oder anderer Stoffe wurde außerdem der Leberbrei + Antiseptikum und dem hinzugesetzten pulverförmigen Körper jedesmal vor der Digestion je 10 Minuten lang in der Schüttelmaschine geschüttelt, um den betreffenden Zusatz möglichst gleichmäßig zu verteilen. In der Literatur habe ich keine

Angaben gefunden, wie lange das zu autolysierende Gemisch geschüttelt worden ist.

Nach der Digestion wurde der Flascheninhalt in eine emaillierte eiserne Abdampfschale gegossen, die Flasche gut nachgespült, der Brei einige Minuten lang heftig gekocht. Bildete sich viel Schaum, so wurde derselbe durch Umrühren mit einem Glasstab zum Sinken gebracht.

Nachdem sich das ganze Eiweiß klumpig ausgeschieden hatte, was für eine schnellere Filtration notwendig ist, wurde die Flüssigkeit noch etwas auf gelindem Feuer eingeengt, nach dem Erkalten in einem Glaszylinder, ohne Verlust, samt festen Teilen bis auf 1 Liter gebracht, ev. Wasser zugesetzt und durch ein trockenes Filter filtriert. Das Filtrat war in allen, außer speziell bezeichneten Fällen vollkommen klar. Das Filtrat wurde dann zunächst auf freiem Feuer und später dem Wasserbad bis auf Sirupdicke eingeengt, mit 50 bis 100 ccm Alcohol absolut. die Albumosen ausgefällt, der Rückstand noch einmal mit 50—100 ccm 80proz. Alkohol nachgewaschen. Beide Alkoholportionen wurden in eine Abdampfschale gegossen und der Alkohol auf dem Wasserbade bis zur Trockene verdunstet. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure stark angesäuert (Kongopapier) und im Zelmanówitzschen Extraxtionsapparat mit Äther etwa 20 Stunden lang extrahiert, der Ätherauszug sorgfältig abgetrennt, der Apparat mit Äther gründlich nachgespült. Der Ätherauszug wurde abdestilliert, dann bis auf wenige ccm verdunstet, der Rückstand nach Wasserzusatz mit einer

kleinen Menge Bleikarbonat auf dem Wasserbad zur Trockene gedampft. Der Rückstand wurde wieder in Wasser aufgenommen, durch ein trockenes, dichtes Filter quantitativ filtriert, tüchtig nachgewaschen, das Filtrat mit H_2S behandelt, um das in Lösung gegangene Blei auszuscheiden, vom Schwefelblei noch einmal quantitativ filtriert, das Filtrat durch Eindampfen auf dem Wasserbad vom Schwefelwasserstoff befreit und zur Entfernung der flüchtigen fetten Säuren eingedampft. Die Flüssigkeit konnte jetzt nur noch Milchsäure enthalten, da etwa vorhandene Bernsteinsäure durch die Behandlung mit Blei entfernt war. Die Milchsäure wurde mit $^1/_{10}$ n. Natronlauge und sehr schmalen, 1 mm breiten Streifen von Lackmuspapier als Indikator titriert.

Bei den mit Borsäure als Antiseptikum gemachten Autolysen wurde durch das Bleikarbonat zur gleichen Zeit auch die vorhandene Borsäure ausgefällt. Auch die Salizylsäure, die in einigen Versuchen angewendet war, kommt bei der außerordentlich schweren Löslichkeit des salizylsaueren Bleis und der Flüchtigkeit der Salizylsäure mit Wasserdämpfen wohl nicht in Betracht. Dies ergibt sich aus den Werten, welche von denjenigen, der bei Senföl als Antiseptikum gewonnenen nicht wesentlich verschieden sind.

In den Fällen, in welchen $^1/_8$ gesättigtes Senfölwasser, 5proz. und 10proz. Alkohollösungen oder $^1/_2$ gesättigte Salizylsäurelösung als Antiseptika gebraucht wurden, wurden Impfungen auf steriler Gelatine in Röhrchen gemacht. Die angegebenen Konzentrationen der obengenannten Lösungen, außer dem 10proz. Alkohol

und der 1proz. Borsäurelösung, sind als Optimumkonzentrationen für die Autolyse von Yoshimoto[53]) festgestellt worden. Das angewandte Chloroformwasser war gesättigt.

Die Menge und die Konsistenz der ausgefällten Albumosen war sehr verschieden, je nach dem angewandten Antiseptikum. Bei Senföl, Chloroformwasser und Salizylsäure sind dieselben sehr reichlich und zäh, bei den übrigen Antiseptika meist bröckelig und mehr oder weniger voluminös. Bei der Autolyse mit 5proz. Alkohol machte sich eine ziemlich starke Gasbildung dadurch bemerkbar, daß sich die Glasstopfen beim Anstoßen der Flaschen im Thermostaten spontan abhoben. Die in der ersten Autolysenreihe angeführten Zahlen zeigen bedeutende Schwankungen, was wohl auf die geringe Gleichmäßigkeit des Versuchsmaterials und die nie zu vermeidende Verschiedenheit in den Lagerungszeiten der Kalbslebern beim Schlächter zurückzuführen ist. In einem Falle liegt ein Versuchsfehler vor: ich habe nämlich vergessen, das Bleikarbonat zu eliminieren. Die Impfungen wurden in der Weise gemacht, daß mit einer sterilen Platinöse ein möglichst kleiner Gewebsbrocken herausgefischt wurde und derselbe teilweise in die Gelatine verimpft wurde.

Erste Versuchsreihe.

Es wurde gesättigtes Chloroformwasser als Antiseptikum angewendet.

Tabelle I.

(Chloroformwasser.)

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$n. Na OH	Berechnete Milchsäure	Bemerkungen
I	50 Stunden	11,7	0,1053	Versuchsfehler
II	50 -	5,45	0,0405	
III	48 -	25,55	0,2299	Lösung nach der Digestion trübe (Glykogen?)
IV	96 -	17,3	0,1557	
V	48 -	3,75	0,0247	
VI	72 -	18,65	0,1678	
VII	96 -	11,05	0,0994	
VIII	148 -	33,5	0,3015	
IX	6 Wochen	4,5	0,0405	
X	6 -	8,65	0,0778	

Die in allen auch später angeführten Versuchen erhaltenen Zahlen beziehen sich auf je 100 g Leber. Auf die Feststellung der Natur der Milchsäure mußte wegen der stets zu kleinen Quantität des erhaltenen Zinksalzes verzichtet werden. Es sei auf die Arbeiten von Magnus-Levy[5]), Mochizuki und Arima[36]), Kikkoji[37]), Inouye und Kondo[20]) und Saito und Yoshikawa verwiesen. Die durch Klammern verbundenen Zahlen weisen auf dasselbe Ausgangsmaterial hin. Es wurden immer 2 bzw. 4 Autolysen auf einmal angesetzt. Das Maximum der Milchsäurebildung ist nach 48 bzw. 72 Stunden, meist aber nach 72 Stunden erreicht; von dieser Zeit ab macht sich eine Verminderung derselben bemerkbar. Die kleinsten Werte sieht man auf Tabelle I, ausgenommen Nr. V, wo aus unerklärlichem Grunde (Versuchsfehler?) nur 0,0247 g Milchsäure gefunden sind, in den Fällen Nr. IX und X.

Es lag nicht im Plan der Arbeit, die Versuche auf so lange Zeitdauer auszudehnen, die Versuche IX und X verdanken ihre lange Dauer vielmehr einer unfreiwilligen Unterbrechung.

Ob die starke Zunahme der Milchsäure in den Versuchen III und IV der Tabelle I dem etwaigen Glykogengehalt zuzuschreiben ist, ist nicht mit Bestimmtheit zu sagen.

Tabelle II.

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$ n. Na OH	Berechnete Milchsäure
I	48 Stunden	19,45	0,17505
II	116 -	11,5	0,1035
III	116 -	17,8	0,1602
IV	136 -	6,8	0,0612
V	48 -	33,0	0,2970
VI	72 -	36,45	0,3280

Die Zahlen der Tabelle II zeigen deutlich, daß der Gehalt an Milchsäure mit der Dauer der Digestion über 48 bzw. 72 Stunden abnimmt.

Zweite Versuchsreihe.

Es wurde $^1/_8$ gesättigtes Senfölwasser gebraucht.

Das Senfölwasser wurde nach den Angaben von Yoshimoto[53]) bereitet: „5 g Senföl werden mit einem Liter destillierten Wassers in einer Schüttelmaschine eine Stunde lang geschüttelt. Nach dem Absetzen des überschüssigen Senföles wurde durch ein trockenes Filter

filtriert“ und das klare Filtrat in Verdünnung von $^1/_8$ als Autolyseflüssigkeit benutzt. Es wurde das „Allylsenföl“ von Kahlbaum benutzt. Ich stellte mir die nötige Verdünnung auf die Weise her, daß ich auf $2^1/_2$ Liter destillierten Wassers 355 ccm des gesättigten Senfölwassers oder auf 1 Liter Wasser 142 ccm des gesättigten Senfölwassers nahm. Die erste Senfölversuchsreihe habe ich ohne Kontrollimpfungen gemacht, die zweite dagegen mit derselben Senfölwasserverdünnung und Gelatineröhrchenimpfungen, welche alle negativ ausfielen.

Tabelle III.

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$ n. Na OH	Berechnete Milchsäure
I	24 Stunden	49,3	0,4437
II	96 -	43,65	0,39285
III	72 -	69,35	0,62415
IV	96 -	58,95	0,53055
V	96 -	67,55	0,60795
VI	120 -	71,55	0,64395

Tabelle IV.

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$ n. Na OH	Berechnete Milchsäure
I	24 Stunden	26,05	0,23445
II	48 -	45,5	0,4095
III	70 -	59,5	0,5355
IV	124 -	52,25	0,47025

Die vorliegenden Tabellen veranschaulichen die erzielten Resultate, indem eine bedeutende Zunahme der

Milchsäure bei Gebrauch des $^1/_8$ gesättigten Senfölwassers sich bemerkbar macht. Die Kulturen blieben auch nach 3wöchiger Dauer bei Zimmertemperatur vollkommen steril in sämtlichen Versuchen der Tabelle IV. Die Klammern bedeuten auch hier die Zusammengehörigkeit der Autolysen zu derselben Portion Leber. Auch hier liegt das Maximum der Säurebildung (Tabelle IV) bei 70 Stunden, im Versuch VI der Tabelle III dagegen bei der 120. Stunde.

Dritte Versuchsreihe.

Es wurden Alkohollösungen angewandt. Zunächst wurde 5 proz. Alkohol gebraucht, da aber bei Verwendung desselben starke Fäulniserscheinungen in Gestalt von Gasbildung (H_2S) auftraten und die Kulturen nicht steril blieben, so wurde noch eine Versuchsreihe mit 10 proz. Alkohol angeschlossen. Die Autolyseflüssigkeit bei Anwendung des 5 proz. Alkohols weist nach Lüftung des Stopfens einen deutlichen Schwefelwasserstoffgeruch auf, welcher auch bei Anwendung von 10 proz. Alkohol auftrat, aber in viel schwächerem Grade.

Tabelle V.

(5 proz. Alkohol.)

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$ n. Na OH	Berechnete Milchsäure
I	24 Stunden	26,35	0,23715
II	48 -	64,7	0,5823
III	72 -	46,25	0,4162
IV	96 -	53,6	0,4824

Impfungen auf Gelatine sind in diesem Falle nicht gemacht worden, daher sind die relativ hohen Werte mit Vorsicht zu beurteilen. Folgende Tabellen zeigen die Resultate bei einer Versuchsreihe mit 5proz. Alkohol, bei welcher auf Gelatine geimpft wurde.

Tabelle VI.

(5proz. Alkohol.)

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$n. Na OH	Berechnete Milchsäure	Kultur
I	24 Stunden	38,0	0,3420	+
II	48 -	59,8	0,5382	vergessen zu impfen
III	72 -	91,3	0,8217	—
IV	92 -	90,3	0,8127	+

Tabelle VII.

(10proz. Alkohol.)

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$n. Na OH	Berechnete Milchsäure	Kultur
I	24 Stunden	4,05	0,03645	Das Wachstum ist stark verzögert
II	48 -	3,75	0,03375	
III	72 -	5,2	0,0468	
IV	92 -	13,0	0,117	

Man sieht aus der Tabelle VI, daß die Milchsäure zwar in größerer Menge vorhanden ist, die Impfung aber in der Hälfte der Fälle positiv ausfiel. Bei der Anwendung von 10 proz. Alkohol weisen die Kulturen ein stark verzögertes Wachstum auf; es tritt aber eine sehr starke Hemmung in der Bildung der Milchsäure

auf, was ohne weiteres aus der Tabelle VII zu ersehen ist.

Von Yoshimoto[53]) ist die „optimale“ Alkoholkonzentration für die Autolyse als 5 proz. Lösung festgestellt worden.

Vierte Versuchsreihe.

Es wurde $^1/_2$ gesättigte Salicylsäurelösung gebraucht. Diese Konzentration ist von Yoshimoto[53]) als „optimale“ für den Vorgang der Autolyse festgestellt worden.

Es wurde reine Salicylsäure von Schering angewendet und die Lösung in folgender Weise bereitet: Die Salicylsäure wurde im Überschuß in siedendem Wasser aufgelöst, über Nacht stehen gelassen, gut durchgeschüttelt und von den ausgeschiedenen Kristallen durch ein trockenes Filter filtriert, dann mit der nötigen Menge Wasser verdünnt. Die angelegten Kulturen blieben mit Ausnahme des Versuches I, wo das Wachstum jedoch sehr verzögert war, stets steril.

Tabelle VIII.

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$ n. Na OH	Berechnete Milchsäure	Kultur
I	24 Stunden	14,45	0,1300	stark verzögert
II	48 -	42,6	0,3834	—
III	72 -	54,4	0,4896	—
IV	90 -	31,4	0,2826	—

Die Mengen der gebildeten Milchsäure entsprechen etwa denjenigen, welche bei der Autolyse mit $^1/_8$ gesättigtem Senföl erzielt wurden und sind durchschnittlich höher als diejenigen, welche bei der Anwendung von Chloroformwasser gefunden worden sind.

Fünfte Versuchsreihe.

Es wurde 1 proz. Borsäurelösung angewendet. Das Präparat war die chemisch reine Borsäure von Kahlbaum.

Fäulnis oder stärkere Gasbildung wurde nicht beobachtet. Die Albumosen fielen nur nach reichlicherem Zusatz von Alcohol absolutus aus und waren von krümeliger Konsistenz.

Tabelle IX.

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$ n. Na OH	Berechnete Milchsäure
I	24 Stunden	9,2	0,0828
II	48 -	38,55	0,3469
III	72 -	68,55	0,6165
IV	92 -	54,15	0,4873

Die Milchsäure, anfänglich in kleinen Mengen, vorhanden, steigt sehr schnell auf 0,6165 g, um nach 92 stündiger Autolyse wieder zu sinken. Ob die Borsäure in den ersten 24 Stunden der Autolyse auf die Milchsäurebildung hemmend wirkt, bleibt unentschieden.

Durch die Versuche von Yoshimoto[53]) ist ein deutlicher Einfluß des Antiseptikums auf die Bildung

von löslichem N bei der antiseptischen Autolyse festgestellt worden, in dem Sinne, daß Salicylsäure und Senföl die Autolyse fördern. Aus den angeführten Versuchen ist es ersichtlich, daß, wenn man Chloroformwasser als Norm wählt, das $^1/_8$ gesättigte Senfölwasser fördernd auf die Autolyse wirkt; der 10 proz. Alkohol dagegen hemmend (beim 5 proz. Alkohol sind die Resultate wegen der einsetzenden Fäulnis nicht auf die Wirkung des Ferments allein zu beziehen), die $^1/_2$ gesättigte Salicylsäurelösung etwas fördernd, die 1 proz. Borsäure anfangs etwas hemmend, später fördernd.

Das „Optimum", d. i. die höchsten Milchsäurewerte wurde nach 48, 72 oder sogar einmal (Tabelle VII) nach 92 Stunden erhalten. In den meisten Versuchen liegt aber das Optimum der Fermentwirkung in, oder kurz nach der 72. Stunde. Nach den bisherigen Resultaten konnte ich in Übereinstimmung mit Mochizuki und Arima[36]), Kikkoji[37]), Inouye und Kondo[20]) und Saito und Yoshikawa[38]) eine Abnahme der Milchsäure nach längerer Digestion feststellen. Dieselbe wird am auffälligsten durch die 6 wöchige Autolysendauer bestätigt. Magnus-Levy[5]) führt das Aufhören der Säurebildung bei der Autolyse zum Teil auf die Schädigung des Ferments durch die gebildeten Säuren zurück.

Versuche mit Zusatz von Kohlenhydraten.

Von der von Magnus-Levy[5]) ausgesprochenen Vermutung über die Abstammung der Milchsäure aus Kohlehydraten ausgehend, habe ich in drei verschie-

denen Versuchen die Leberautolyse mit Zusatz von Stärke, Glykogen und Dextrin ausgeführt. Das Resultat dieser Versuche ist aus folgenden Tabellen zu ersehen. Es wurden jedesmal 100 g Leberbrei und ein Liter Chloroformwasser genommen, und die Menge der zugesetzten Stoffe bezieht sich auf diese Mengen Material für je eine Autolyse. Die Kohlehydrate wurden in Pulverform dem Leberbrei + $^3/_4$ Liter Chloroformwasser zugesetzt und 10 Minuten in der Schüttelmaschine geschüttelt, um dieselben möglichst gleichmäßig zu verteilen. Nach dem Schütteln wurde das Antiseptikum auf 1 Liter aufgefüllt und das Gemisch im Brutschrank bei 40—41° unter Umschütteln mehrmals am Tage sich selbst überlassen.

I. Versuch.

Es wurde zu jeder Autolyse je 10 g „lösliche Stärke“ (Kahlbaum) zugesetzt.

Tabelle X.

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$ n. Na OH	Berechnete Milchsäure
I	48 Stunden	10,8	0,0972
II	72 -	14,3	0,1287

In diesem Falle konnte die nach dem Filtrieren gewonnene Flüssigkeit wegen der sich ausscheidenden Stärkekleistergallerte nicht ganz bis zur Sirupdicke eingedampft werden. Deswegen wurden 100—150 ccm Alkohol zum Ausfällen der Albumosen und ebensoviel zum Nachspülen derselben gebraucht.

II. Versuch.

Es wurden zu jeder Autolyse je 5 g des fast chemisch reinen Glykogens (Laboratoriumssammlung) verwendet.

Tabelle XI.

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$ n. Na OH	Berechnete Milchsäure
I	48 Stunden	14,85	0,13365
II	72 -	4,9	0,0441

III. Versuch.

Es wurden je 10 g Dextrin zu jeder Autolyse zugesetzt.

Tabelle XII.

Nr.	Dauer	Verbrauchte $^1/_{10}$ n. Na OH	Berechnete Milchsäure
I	48 Stunden	11,4	0,1026
II	72 -	14,4	0,1314

Vorliegende Resultate zeigen keine größeren Unterschiede der Milchsäuremenge gegenüber den einfachen Autolysen mit Chloroformwasser ohne jeden Zusatz.

Man sollte annehmen, daß bei der vermutlichen, reichlich vorhandenen Quelle für die Milchsäure sich dieselbe in größeren Mengen bilden sollte, was aber in vorliegenden Versuchen nicht der Fall ist. Im Versuch II der Tabelle XI ist die Milchsäuremenge sogar stark herabgesetzt.

Türkel[54]) unterwarf Hundeleber der Autolyse mit Zusatz von 1 Proz. Inosit, 10 Proz. Dextrose und 0,5—2,0 Proz. Alanin. Der Zusatz von 1 Proz. Inosit soll keinen Einfluß auf die Menge der gebildeten Milchsäure gehabt haben. Die Resultate bei Zusatz von Dextrose (10 Proz.) und Alanin (0,5; 1,0; 2,0 g auf 25 g Leber) tragen keinen einheitlichen Charakter: bald war die Milchsäuremenge vermehrt, bald wurden Durchschnittswerte erhalten. Diese Resultate beziehen sich auf glykogenhaltige und glykogenfreie Hundeleber. Wieweit aber diese, von ihm gewonnenen Resultate richtig sind, ist infolge nicht einwandfreier Methodik nicht zu beurteilen.

Vielleicht wird die Spaltung der Kohlehydrate nur durch das lebende Zellprotoplasma oder die nicht durch Antiseptika gehemmten Fermente bewerkstelligt. Sagt doch Magnus-Levy[5]), daß die Vorgänge sich viel schneller bei der aseptischen Autolyse abspielen, als bei der antiseptischen. Hoffentlich werden künftige Versuche, eventuell bei viel längerer Dauer der Autolyse, recht bald die richtigen Quellen der Milchsäurebildung, sei es aus Kohlehydraten, sei es aus anderen Atomgruppen, feststellen.

Die vorliegenden Resultate lassen sich kurz auf folgende Weise ausdrücken.

1. Verschiedene Antiseptika wirken verschieden (fördernd oder hemmend) auf die Milchsäurebildung bei der Autolyse der Leber, und

zwar in dem Sinne, daß $^1/_2$ gesättigte Salizylsäure und $^1/_8$ gesättigtes Senfölwasser dieselbe fördern, 10 proz. Alkohol dagegen dieselbe hemmt.

2. Die Menge der gebildeten Milchsäure steigt bis zu etwa 48—72 Stunden und sinkt danach wieder. Man muß also ein milchsäurebildendes und ein milchsäurezerstörendes Ferment annehmen.

3. Der Zusatz von Kohlehydraten hat in den vorliegenden Versuchen zu keiner Steigerung der Milchsäuremenge bei der antiseptischen Autolyse der Kalbsleber geführt.

Hiermit sei es mir gestattet, meinen verbindlichsten Dank Herrn Geheimrat Salkowski für die Überweisung des Themas sowie für die freundliche Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit auszusprechen.

Literatur.

1. Pribram, Wiener Akad., Bd. 78 (1878), zitiert nach Saito und Katsuyama, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 32.
2. Wissokowitsch, Du Bois-Arch. 1887, Suppl., S. 91, zitiert nach Magnus-Levy[5]).
3. Morishima, Arch. f. exp. Path., Bd. 43, S. 217, zitiert nach Magnus-Levy[5]).
4. Marie Ekunina, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 21, S. 479 (1880).
5. Magnus-Levy, Hofm. Beitr., Bd. 2, S. 261 (1902).
6. E. Salkowski, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 17, Festschrift für Leyden, Suppl., S. 92.
7. Jacoby, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 30, S. 135.
8. Minkowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 21, S. 41; Bd. 31, S. 214, zitiert nach Morishima[12]).
9. Nebelthau, Zeitschr. f. Biol., Bd. 25, S. 122.
10. Zillessen, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 15, S. 387.
11. Salaskin und Salesky, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 29, S. 517.
12. Schultzen und Rieß, zitiert nach Araki[16]).
13. Morishima, Arch. f. exp. Path., Bd. 43.
14. Salkowski, Berl. klin. Wochenschr. 1900, Nr. 20.
15. Röhmann, Berl. klin. Wochenschr. 1888, Nr. 43.
16. Araki, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 17, S. 331.
17. Münzer und Palma, Zeitschr. f. Heilkunde, Bd. 15, S. 1.
18. Hoppe-Seyler, Separatabdruck aus der Festschrift der Assistenten Virchows, Berlin 1891.
19. Asher, Zeitschr. f. Biol., Bd. 41, S. 393, zitiert nach Magnus-Levy[5]).
20. Inouye und Kondo, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 54, S. 481.
21. Stoklasa und Czerny, Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 36, S. 4058.

22. Heffter, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 31, S. 250, zitiert nach Inouye und Kondo[20]).
23. Schwiening, Virchows Arch., Bd. 136, S. 450, zitiert nach Inouye und Kondo[20]).
24. Berlinerblau, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 23, S. 333, zitiert nach Inouye und Kondo[20]).
25. Vaughan Harley, Arch. f. Phys. u. Anat. 1893, Suppl., S. 46, zitiert nach Inouye und Kondo[20]).
26. Araki, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 19, S. 422.
27. Seegen, Engelmanns Arch. 1900, S. 292, zitiert nach Magnus-Levy[5]).
28. Morishima, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 43, S. 217.
29. Seegen, Pflügers Arch., Bd. 29, S. 132 (1886).
30. Fr. Pick, Hofm. Beitr., Bd. 3, S. 163 (1903).
31. Wohlgemuth, Biochem. Zeitschr., Bd. 9, S. 28 (1908).
32. Foster, Journ. of anat. and physiol., Bd. 1, S. 107 (1867).
33. Dastre, Arch. d. phys. norm et path. (1888).
34. Noël et Paton, Journ. of phys., Bd. 22, S. 121 (1894).
35. Cavazzani, Pflügers Arch., Bd. 57, S. 81 (1894) und Ann. di chimica e pharmacol. 1897.
36. Mochizuki und Arima, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 49, S. 108.
37. Kikkoji, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 53, S. 415.
38. Saito und Yoshikawa, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 62, S. 107.
39. Moscatelli, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 12, S. 416.
40. Moryo, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 43, S. 400.
41. Biondi, Vichows Arch., Bd. 144, S. 373 (1896), zitiert nach Arinkin[50]).
42. Schwiening, Virchows Arch., Bd. 136, S. 444.
43. Hedin und Rowland, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 32, S. 531.
44. Levene und Stookey, Biochem. Zentralbl. 1904, S. 119, zitiert nach Arinkin[50]).
45. Wiener, Zentralbl. f. Physiol., Bd. 19, S. 349, zitiert nach Arinkin[50]).
46. Hildebrand, Hofm. Beitr., Bd. 5, S. 493 (1904), zitiert nach Arinkin[50]).
47. Baer und Loeb, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 53, Heft 1 (1905), zitiert nach Arinkin[50]).
48. Hedin, Upsala 1906, Festschrift für Olof Hammarsten, zitiert nach Arinkin[50]).

49. Drjewezki, Biochem. Zeitschr., Bd. 1, Heft 3, S. 222.
50. Arinkin, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 53, S. 196.
51. Frew, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 60, S. 19.
52. Embden, Zentralbl. f. Physiol., Bd. 18, S. 832, zitiert nach Inouye und Kondo[20]).
53. Yoshimoto, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 58, S. 341.
54. Türkel, Biochem. Zeitschr., Bd. 20, S. 431.
55. Conradi, Beitr. z. Chem., Physiol. u. Path., Bd. 1, S. 136, zitiert nach Magnus-Levy[5]).

Lebenslauf.

Ich, Georg von Stein, evangelisch-reformierter Konfession, russischer Staatsangehörigkeit, bin als ältester Sohn des Arztes und Privatdozenten an der Moskauer Universität Dr. med. Stanislaus von Stein am 13. Oktober 1887 in Moskau geboren. 1897 bin ich als Schüler des Moskauer VII. „Kaiser Alexander III" Humanistischen Gymnasiums aufgenommen worden, woselbst ich im Jahre 1905 mein Reifezeugnis erlangte.

Im November 1905 bin ich zum erstenmal an der hiesigen Friedrich-Wilhelms-Universität immatrikuliert worden, woselbst ich Michaeli 1910 zum zweitenmal immatrikuliert wurde. Im Sommer 1908 bestand ich die ärztliche Vorprüfung. Die ganze Zeit habe ich in Berlin studiert.

Während meiner Studienzeit habe ich die Vorlesungen und Kurse folgender Dozenten besucht:

Axhausen, B. Baginsky, Beitzke, Benda, Bier, Blumreich, Brühl, Bumm, Drude †, Engelmann †, Engler, Ficker, Fischer, Flügge, B. Fränkel, F. Fränkel, Gabriel, Gilg, Grawitz, Greeff, von Hansemann, Heffter, Hertwig, Heubner, His, Klapp, Klein †, Kopsch, Kraus, Krause, Lesser, Lewin, Michaelis, von Michel, Olshausen, Orth, Passow, Pels-Leusden, Rubens, Schmieden, Eilh.-Schultze, Schwendener, Salkowski, F. Straßmann, Thoms, H. Virchow, Waldeyer und Ziehen.

Meinen hochgeehrten Lehrern sei hiermit mein bester Dank ausgesprochen!